

湖北樟属数量化学分类研究*

陶光复 钟扬

(中国科学院武汉植物研究所, 武汉)

摘要 本文利用湖北樟属植物 13 号精油的气相色谱/质谱/电子计算机联用分析的结果, 从已鉴定出的 108 个化学成分中, 筛选出 30 个主要成分, 综合各种植物的 17 个主要形态特征, 进行数量分类研究。数学分析结果揭示了樟属各种性状变化的规律性, 尤其是形态特征与化学成分之间的相关性。乙酸龙脑酯、反式-甲基异丁香酚和芳樟醇等重要香精原料的含量, 与某些形态特征的变化密切相关, 罗勒烯可能是樟属分组的特征性成分。本文还在聚类分析的基础上, 进一步探讨了分类群的划分, 并根据精油成分在不同种和同种不同类型中的分布及含量, 参照各分类群之间的相关系数, 对其演化关系作出了推论。湖北樟属植物可能起源于我国西南的黄樟樟脑型, 而芳樟和黄樟芳樟醇型则是最进化的类群。

关键词 樟属; 数量化学分类; 性状间相关性; 演化关系

樟属 (*Cinnamomum* Trew) 植物是一类十分重要的经济林木, 而且富含多种芳香成分, 可供提取各种樟油。关于各种植物的形态特征与其精油化学成分之间的相关性, 多年来一直是个令人感兴趣而又颇有争论的问题。Y. Fujita (1951, 1952, 1967) 和 N. Hirota (1952, 1953) 等人曾对产于日本、中国台湾和华南的某些种类, 进行过这方面的研究工作^[7-11]。Y. Fujita 还主要根据芳樟醇在各个种中存在的情况, 作出了表示樟属植物演化规律的立体系统图 (Cubic system)^[7,9]。李锡文 (1975) 对云南樟及其相近种的精油化学与植物分类问题, 作了进一步的探讨, 却得出了与此完全不同的结论^[2]。

樟属是主产东亚的一个大属, 种类多达 250 余种, 分布至澳大利亚、太平洋诸岛和热带美洲, 变异较大, 中间过渡类型较多^[12,10]。而且同一种内又具有明显的多型性, 即同种内由于精油化学成分的差异, 可区分为多个类型^[2]。所以, 研究樟属植物的精油化学成分与形态特征的相关性, 是相当困难的。而以往这类研究工作, 是以传统的实验化学手段来分析精油成分, 多无精确的定量结果; 在综合化学性状与形态性状加以比较讨论时, 也是采用定性的分析方法。因此产生不同观点的争论是很自然的。

鉴于这种情况, 我们以湖北樟属为材料 (绝大部分种类与上述工作不同或个别种相同而化学成分不同), 在野外大量采集调查的基础上, 对形态性状进行反复比较筛选; 采用现代先进的仪器分析手段 (GC/MS/DS 联用系统), 对各种精油的化学成分加以定性定量测定; 综合各方面的结果, 运用数量分类学的方法, 进行了定量分析研究。

一、研究材料与方法

自 1982 年开始, 陶光复等研究湖北樟属植物精油化学成分在不同种中的分布。五年

* 中国科学院科学基金资助项目。

承蒙谭景桑教授予以指导; 李锡文研究员审阅本文初稿, 并提出宝贵意见; 孙汉董副研究员和丁靖凯高级工程师等协助完成精油化学成分分析工作; 吕爱华工程师和张小红同志提取精油样品并测定物理常数; 蒋祖德先生和陈革新同志为本文制图复墨; 蒋春同志翻译有关日文资料。在此一并敬致谢忱。

来,共采集 1000 多份标本和 60 号叶油样品。经分类研究,筛选出主要的形态性状 17 个,其中含二元性状 4 个,有序多态性状 12 个和数值性状 1 个。另选取具代表性的油样 13 号,分别采用 Finnigan-4510 型毛细管气相色谱/质谱/电子计算机联用方法测定其化学成分,总共鉴定出 108 个化合物,并掌握了这些成分在不同种中的分布规律^[3-4]。经比较发现,其中有 30 个化学成分为樟属精油的主要成分或特征性成分。以 13 个油样所代表的种类为分类运算单位 (OTU's) (详见表 1),取用上述 17 个形态性状和 30 个化学性状 (详见表 2),获得原始数据矩阵。化学性状数据直接利用各成分占精油的百分比含量数值。原始数据需先经标准化 (Standardization) 处理,然后进行计算。所采用的数学分析方法是聚类分析 (Cluster analysis),用 BASIC 语言编写程序,在我所 IBM PC/XT 型电子计算机上计算。

表 1 湖北樟属叶油的种类和产地

Table 1 The Species and localities of *Cinnamomum* Leaves Oils in Hubei Province

中 名 Chinese name	学 名 Scientific name	主 要 成 分 Major component	产 地 Locality	海拔 (m) Altitude
湖北樟 ^[3]	<i>C. bodinieri</i> var. <i>hupehanum</i>	柠檬醛 Citral	长阳 Changyang	520
湖北樟	<i>C. bodinieri</i> var. <i>hupehanum</i>	樟脑 Camphor	长阳 Changyang	600
樟树	<i>C. camphora</i>	桉叶油素 Cineole	利川 Lichuan	1080
芳樟	<i>C. camphora</i> var. <i>linaloolifera</i>	芳樟醇 Linalool	利川 Lichuan	720
少花桂	<i>C. pauciflorum</i>	α -蒎烯 α -Pinene	利川 Lichuan	580
毛桂	<i>C. appelianum</i>	桉叶油素 Cineole	咸丰 Xianfeng	650
油樟	<i>C. longepaniculatum</i>	布勒醇 Bulnesol	长阳 Changyang	500
阔叶樟	<i>C. platyphyllum</i>	反式-甲基异丁香酚 Trans-methylisoeugenol	利川 Lichuan	720
黄樟	<i>C. parthenoxylon</i>	芳樟醇 Linalool	咸丰 Xianfeng	700
银木	<i>C. septentrionale</i>	反式-甲基异丁香酚 Trans-methylisoeugenol	利川 Lichuan	850
川桂	<i>C. wilsoni</i>	柠檬醛 Citral	长阳 Changyang	500
川桂	<i>C. wilsonii</i>	柠檬醛 Citral	咸丰 Xianfeng	900
川桂	<i>C. wilsonii</i>	乙酸桂皮酯 Cinnamicacetate	利川 Lichuan	800

表2 湖北樟属数量化学分类性状*

Table 2 The Numerical Chemotaxonomical Characters of *Cinnamomum* in Hubei Province

序号 No.	性 状 Characters	编码类型 Code types	序号 No.	性 状 Characters	编码类型 Code types
1	果时花被片脱落否	二 (T)	25	对-聚伞花素	数 (N)
2	叶着生方式	二 (T)	26	柠檬烯	数 (N)
3	老叶下面毛被情况	二 (T)	27	1, 8-桉叶油素	数 (N)
4	花序长度	数 (N)	28	罗勒烯	数 (N)
5	花序着生位置	多 (M)	29	芳樟醇	数 (N)
6	花序毛被情况	多 (M)	30	松油-4-醇	数 (N)
7	叶脉	多 (M)	31	α -松油醇	数 (N)
8	叶形	多 (M)	32	橙花醛	数 (N)
9	叶下面干时颜色	二 (T)	33	异龙脑乙酸酯	数 (N)
10	花色	多 (M)	34	反式-甲基异丁香酚	数 (N)
11	花被毛被情况	多 (M)	35	反式-氧化芳樟醇	数 (N)
12	果托形状	多 (M)	36	顺式-氧化芳樟醇	数 (N)
13	果托边缘	二 (T)	37	香叶醛	数 (N)
14	芽鳞明显情况	多 (M)	38	樟脑	数 (N)
15	芽鳞有无毛	多 (M)	39	龙脑	数 (N)
16	芽的大小及形状	多 (M)	40	甲基丁香酚	数 (N)
17	柱头形状	多 (M)	41	乙酸龙脑酯	数 (N)
18	α -侧柏烯	数 (N)	42	布勒醇	数 (N)
19	α -蒎烯	数 (N)	43	β -桉叶醇	数 (N)
20	蒎烯	数 (N)	44	(E)-桂皮醛	数 (N)
21	香桉烯	数 (N)	45	(Z)-乙酸桂皮酯	数 (N)
22	β -蒎烯	数 (N)	46	(E)-乙酸桂皮酯	数 (N)
23	月桂烯	数 (N)	47	乙酸香叶酯	数 (N)
24	α -水芹烯	数 (N)			

* 性状编码说明: 表中“二”表示二元性状 (T = Two-state character); “多”表示有序多态性状 (M = Multistate character); “数”表示数值性状 (N = Numerical character)。

二、各种性状间的相关性

对标准化数据计算分类性状间的距离系数 (Distance coefficients), 在距离系数矩阵上进行聚类运算, 得到各种性状之间的 R 分析结果, 作出树系图 (Dendrogram) (见图 1)。聚类运算方法采用效果较好的 UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages) 法^[9]。为了便于分析讨论, 需要确定一条划分性状群的界线。从树系图上可见, 类群逐次归并时出现的最大一次飞跃, 在前后聚合水平值为 3.21 与 3.62 之间, 但在此处聚类程度偏低。如果取第二次大的飞跃, 将飞跃前后结合水平的中间值:

$$(3.65 + 3.83)/2 = 3.74$$

定为性状群的划分值, 并在树系图上作出结合线 L。这条分界线将全部性状分成 7 个组和 6 个零星性状 (单独或成对)。

A 组包括了 5 个形态性状, 其中果时花被片是否宿存 (1)、叶着生方式 (2) 和芽鳞是否明显 (14) 三个性状之间的相关性最大。经典分类学方法正是依据这组相关的性状, 把樟属分成樟组 (Section *Camphora*) 和肉桂组 (Section *Cinnamomum*) 两个组。两者是

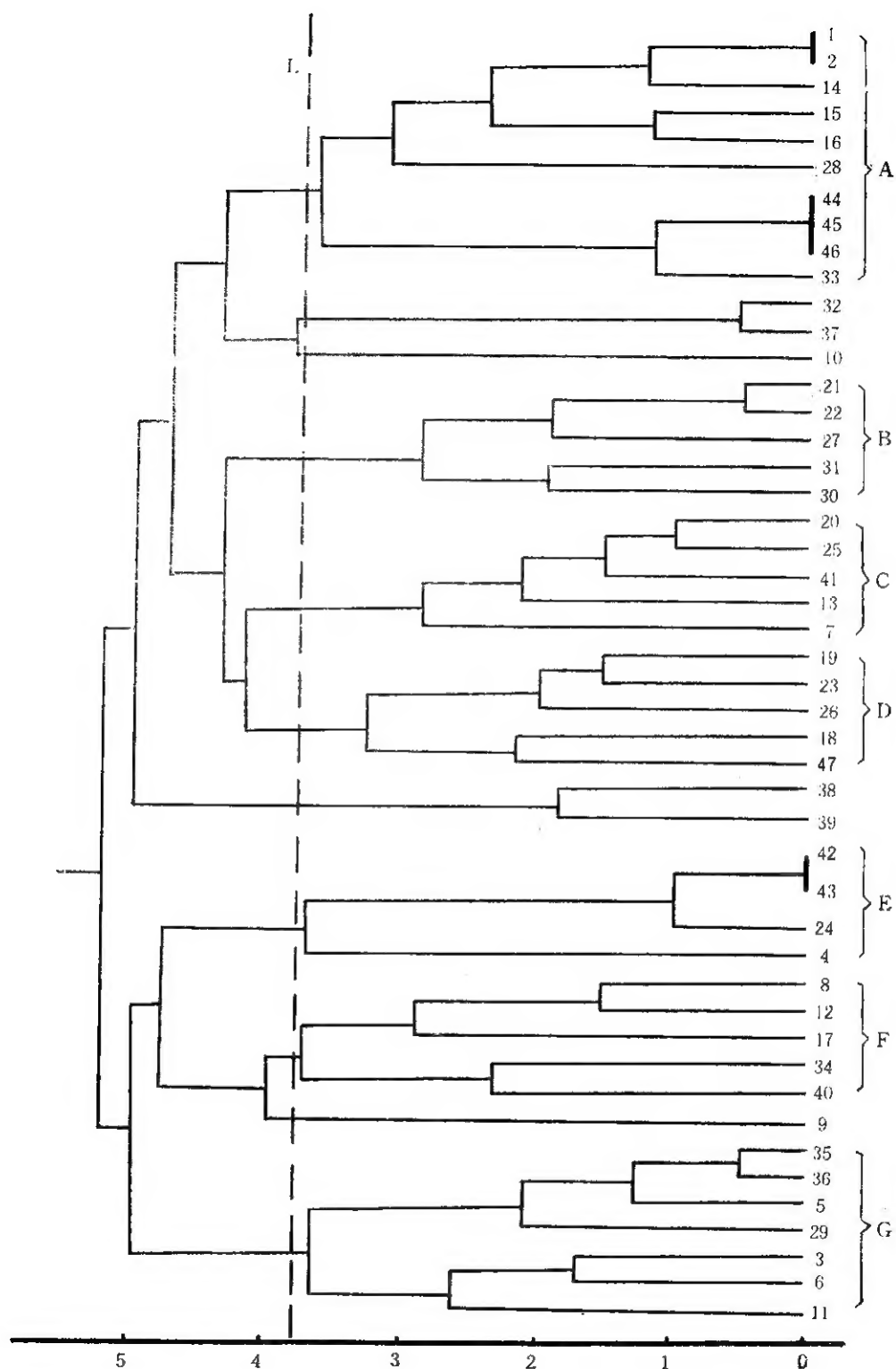


图 1 湖北樟属 R 分析树系图距离系数 (UPGMA) (数字代表性状, 见表 2)

Fig. 1 The Dendrogram of R Cluster Analysis of *Cinnamomum* in Hubei Province shown by Distance Coefficient (UPGMA) (Number=Character, see Table 2)

一致的。图 1 还显示出,这 5 个形态性状与 A 组包含的另 5 个化学性状具有不同程度的相关性,尤其是与罗勒烯的含量(28)之间相关性较大。因此,罗勒烯可视为樟属分组的特征性成分,它仅分布于肉桂组各种中,而在樟组中则不存在。B 组共有 5 个化学性状,这是一组在樟属各种中分布很广而相关性明显的性状,尤以香桉烯(21)、 β -蒎烯(22)和 1,8-桉叶油素(27)更为突出,几乎存在于各个种。C 组包含乙酸龙脑酯(41),这是一种十分贵重的香精原料,具有很高的经济价值,高含量的植物资源极难寻找。对 C 组的分析结果揭示,乙酸龙脑酯的含量与茨烯(20)、对-聚伞花素(25)有较密切的相关性,同时也与果托边缘(13)和叶脉(7)两个形态性状相关。凡三出脉或离基三出脉,果托边缘波状,茨烯和对-聚伞花素含量高的种类,乙酸龙脑酯含量就高。例如,毛桂(*C. apellianum*)具三出脉或离基三出脉,果托边缘波状,其叶油以乙酸龙脑酯为主要成分(含 16.24%),也含有较高的茨烯(5.19%)和对-聚伞花素(3.72%)¹⁾,与分析的结论十分一致。D 组显示出 5 个化学性状之间不同程度的相关性,其中 α -蒎烯(19)是自然界存在最多的一个萜类化合物,在松节油中含量可达 80%,但在樟属植物中虽然分布较广却含量差异很大。它的含量与其它 4 个成分,尤其是与月桂烯(23)、柠檬烯(26)的含量具有较大的相关性。E 组表明,布勒烯(42)、 β -桉叶醇(43)与 α -水芹烯(24)是三个密切相关的化学性状,而它们的含量与花序长度(4)之间存在一定程度的正相关。例如,油樟(*C. longepaniculatum*)的花序最长(14.5 cm),其叶油中这三个成分的含量均最高²⁾。F 组有 3 个彼此相关的形态性状和 2 个较为接近的化学性状。其中,反式-甲基异丁香酚(34)是十分重要的单体香料,应用范围很广,开发价值甚大,但是天然资源很少。F 组分析结果说明,它的含量不仅与甲基丁香酚(40)相关,而且与其它三个形态性状有关。凡叶形为卵形或椭圆状披针形,果托和花柱柱头皆呈盘状的种类,其叶油中反式-甲基异丁香酚的含量就高。例如,银木(*C. septentrionale*)和阔叶樟(*C. platyphyllum*)皆具有这类形态特征,两种叶油中反式-甲基异丁香酚的含量分别高达 85.71% 和 94.04%¹⁾,即是两个极好的例证。这为从樟属植物中寻找反式-甲基异丁香酚的新资源,提供了形态学方面的依据。G 组包括芳樟醇(29)在内,这是一种在香精生产中应用得最多最广的原料。它的存在虽广泛分布于樟属各种,但其含量高低相差悬殊,真正具有开发价值的高含量资源植物也难以寻找。从 G 组的分析中可以发现,它的含量不仅与反式-氧化芳樟醇(35)和顺式-氧化芳樟醇(36)相一致,更有意义的是与植株各部位毛被的情况有一定的相关性。从湖北樟属各种的情况来看,如果老叶下面、花序及花被各部均无毛,则其叶油中芳樟醇的含量比较高³⁾。

以上分析结果表明,樟属植物各种性状之间存在着不同程度的相关性,特别是揭示了精油化学成分与形态特征之间的某些难以发现的内在联系。这无论是在理论研究上或在开发新的樟油资源中,都具有重要的意义。

三、分类群的划分及其演化关系

使用经标准化处理的数据计算相关系数 (Correlation coefficients),然后在相关系

1), 2) 见 416 页脚注。

数矩阵上进行聚类运算得到Q分析结果(见图2)。聚类方法仍采用UPGMA法。树系

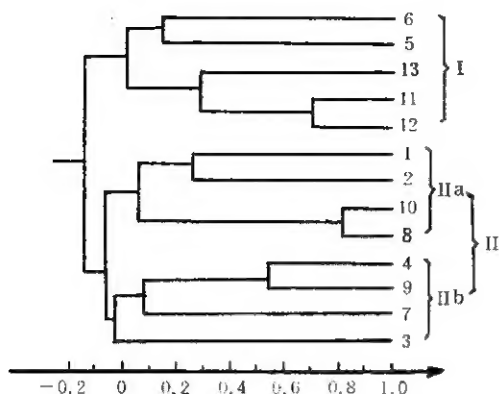


图2 湖北樟属Q分析树系图相关系数(UPGMA)
(数字代表分类运算单位,见表1)

Fig. 2 The Dendrogram of Q Cluster Analysis of *Cinnamomum* in Hubei Province shown by Correlation Coefficient (UPGMA) (Number = OTU, see Table 1)

图表明13个OTU's聚合成两组,其中I组各种均属肉桂组,II组各种皆属樟组。这与传统分类将樟属分为两大类(肉桂组和樟组)的认识是一致的。

在I组中,OTU 11与OTU 12之间的相关系数已达0.7以上,这是由于二者的形态特征十分相近,而叶油中柠檬醛(即橙花醛和香叶醛合计)的含量均很高(分别为77.99%和86.47%)¹⁾。因此,这两个分类单位应予合并,作为川桂的柠檬醛型。OTU 13与它很接近,这是川桂的另一个生化类型,即主含乙酸桂皮酯和桂皮醛的类型²⁾。少花桂(OTU 5)和毛桂(OTU 6)则是一对比接近的种⁴⁾。II组是由各含4个分类单位的

两个类群所组成。查对原始数据矩阵可以清楚地看出,这两个类群在一组重要性状(性状3、6和11)上的表现是截然不同的。在老叶下面、花序和花被片外面的毛被情况上,IIa类群明显有毛,而IIb类群表现无毛。传统分类编制樟组分种检索表时,首先也是利用这些性状将樟组分成两个类群。二者完全相符合。在IIa类群中,OTU 1与OTU 2比较相近,二者同为湖北樟。不同的是,前者为柠檬醛型(含95.01%)¹⁾,后者为樟脑型(含88.46%)¹³⁾。图中银木(*C. septentrionale*, OTU 10)和阔叶樟(*C. platyphyllum*, OTU 8)是一对更加相近的种,其相关系数为0.8126。这里给出一个提示,银木和阔叶樟从形态特征到精油化学成分,比较全面地相似,是否应予归并为一个种,或具有何特殊的亲缘关系?这是一个值得进一步研究的课题。在IIb类群中,芳樟(OTU 4)与黄樟芳樟醇型(OTU 9)的相关系数较大,而与同种的樟树油樟型(OTU 3)相距甚远。这反映出精油化学成分的异同,对分类群的聚合具有很大的影响。

关于同一种内不同类型之间及不同种之间的演化关系问题,李锡文(1975)研究了精油成分在个体发育不同阶段的变化,并从个体发育重演系统发育的观点提出:“结构比较复杂的成分是比较‘古老’的,可能是在较古老的历史条件下形成;结构比较简单的成分是比较‘年轻’的,可能是在较近的历史条件下形成。那么,在不同种和同一种不同类型之间的演化关系,便可根据其精油化学成分作出推论。”¹²⁾从湖北樟属各种叶油的主要成分分析,大多数为单萜类化合物,其次为苯环类成分,仅布勒醇属倍半萜烯。参考Y. Fujita(1951, 1967)对樟油成分生源学多年研究的结果^{15,17)},显然,芳樟醇和柠檬醛等具不饱和的开链结构是比较简单的成分,而樟脑和桉叶油素等具饱和的环状结构是比较复杂的成分(见图3)。

1) 见416页脚注。

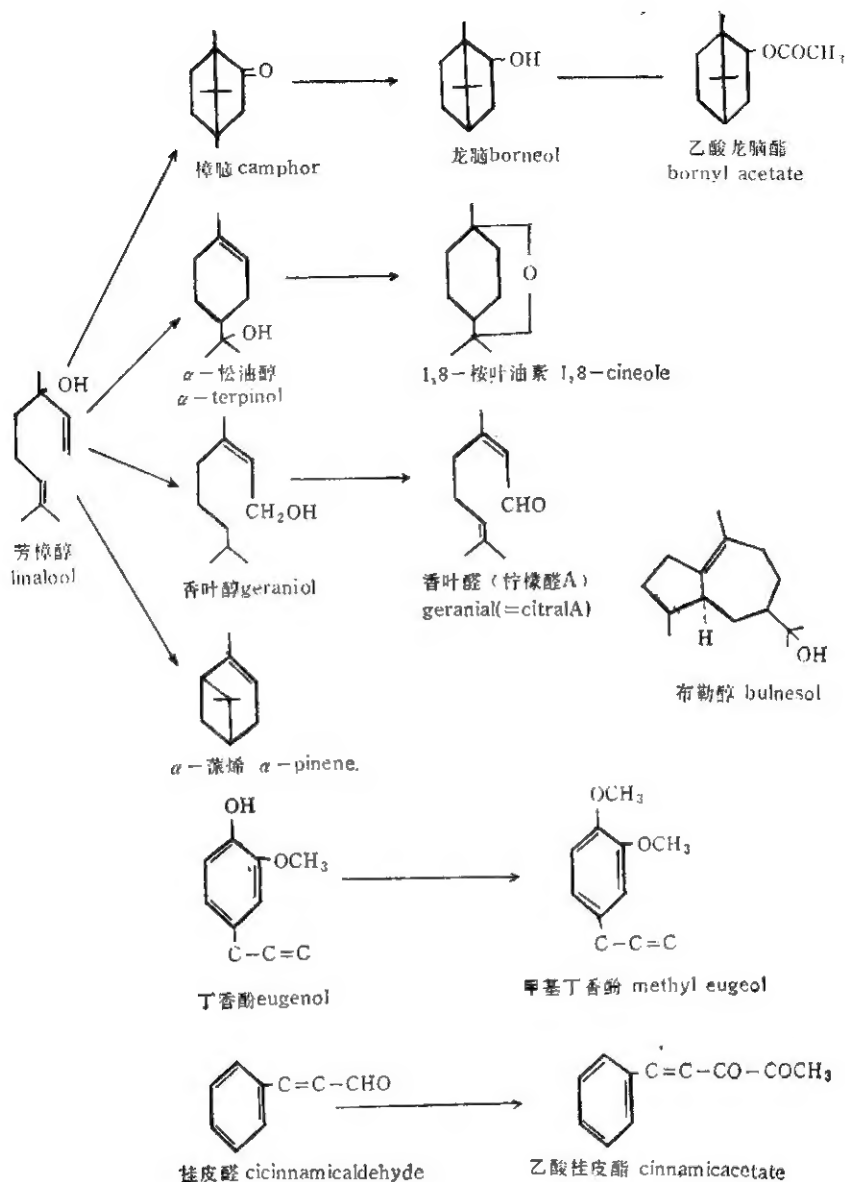


图3 湖北樟油的主要化学成分

Fig. 3 Major Chemical Components of *Cinnamomum* Oils in Hubei Province

因此,根据这些化学成分在不同种和同种不同类型中的分布及含量,参照Q分析树系图(图2)所示的各分类单位之间的相关系数,即可对它们之间的演化关系作出如下推论:湖北樟组植物可能起源于我国西南的古老的黄樟樟脑型。一支演化成湖北樟的樟脑型,而另一支则在较近代的历史环境条件下形成黄樟的芳樟醇型。湖北樟的樟脑型一方面进行种内分化,产生较“年轻”的柠檬醛型,另一方面在较“古老”的历史环境条件下逐渐演化成樟树、油樟、阔叶樟和银木等近缘种。其中,樟树又分为较“古老”的油樟型和较“年轻”的芳樟型。肉桂组中较“古老”的种系是毛桂,其叶油的主要成分为1,8-桉叶油素和乙

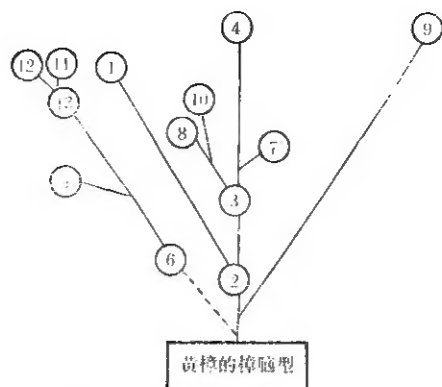


图4 湖北樟属演化关系(图中数字代表分类运算单位,见表1)

Fig. 4 Evolutionary Relationship of *Cinnamomum* in Hubei Province (Number = OTU, see Table 1)

酸龙脑酯。进而由毛桂向少花桂和川桂两个方向演化。川桂分成两个类型,分别以乙酸桂皮酯和柠檬醛为主成分,显然后者较进化些。至于毛桂是否也由黄樟的樟脑型演化而来,从而沟通了两个组之间的联系,仅是一个推测。这几个种可能存在的演化关系,如图4所示。

图4提出的演化关系只是对湖北樟属分类系统的初步考虑。诚然,这是个十分复杂的问题,而推论又显得过于简单,有待于今后进一步深入研究。但是,它却比较清楚地表明了各种和同种不同类型之间的相对进化程度以及亲缘关系距离。

参 考 文 献

- [1] 中国植物志编辑委员会, 1982: 中国植物志, 樟科, 科学出版社, 31: 160—188.
- [2] 李锡文, 1975: 云南樟及其相近种的精油化学与植物分类. 植物分类学报 13(4): 36—50.
- [3] 陶光复, 孙汉董等, 1987: 天然樟脑和芳樟醇的新资源植物, 植物学报 29(5): 541—548.
- [4] 陶光复, 孙汉董等, 1988: 中国特有的反式-甲基异丁基香酚新资源植物, 植物学报 30(3): 312—317.
- [5] Fujita, Y., 1951: Fundamental studies of essential oils. *The Ogawa Perfume Times*, No. 202. Ogawa & Co. Ltd. Osaka & Tokyo, pp. 315—337 (in Japanese).
- [6] Fujita, Y., 1952: *Cinnamomum camphora* Sieb. and its allied species. Their interrelationships considered from the view-points of species characteristics, chemical constituents, geographical distribution and evolution. *Bot. Mag. Tokyo*, 65: 245—250 (in Japanese).
- [7] Fujita, Y., 1967: Classification and phylogeny of the genus *Cinnamomum* viewed from the constituents of essential oils. *Bot. Mag. Tokyo*, 80: 261—271 (in Japanese).
- [8] Hirota, N., 1953: An examination of the camphor tree and its leaf oil. *Perfume & Essential Oil Rec.*, 44: 4—10.
- [9] Sneath, P. H. A., Sokal, R. R., 1973: Numerical taxonomy. W. H. Freeman & Company.
- [10] Wood, C. E., 1958: Genera of woody ranales, 2. *Cinnamomum* Trew. *Journal of the Arnold Arboretum*, 34: 334—336.
- [11] Youngman, B. J., 1952: Professor Naonori Hirota's work on camphor trees. *Kew Bull.* 1952: 61—65 (Summary of extensive work on taxonomy, chemistry, and distribution in Japan, Formosa, China).

注: 1) 陶光复、丁靖凯等, 1988: 毛桂和少花桂叶精油的化学成分, 武汉植物学研究 6(3)。

2) —————, 1988 柠檬醛和桉叶油素新资源植物, 武汉植物学研究(待发表)。

STUDY ON NUMERICAL CHEMOTAXONOMY OF CINNAMOMUM IN HUBEI PROVINCE

TAO GUANG-FU ZHONG YANG

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica, Wuhan)

Abstract The genus *Cinnamomum* has been collected and investigated from Hubei Province since 1982, 13 samples of essential oils were extracted by steam distillation from fresh leaves of the various species of *Cinnamomum* and examined qualitatively and quantitatively by the method of capillary GC/MS/DS on Finnigan-4510 type. 108 compounds have been identified, of which 30 major constituents are selected as numerical chemotaxonomical characters, together with 17 morphological ones. The 13 samples were taken as operational taxonomic units (OTU's). Results obtained through R cluster analysis indicate the phenetic distance and regular correlation among the characters, especially between morphological and chemical ones. Results obtained through Q cluster analysis show the relationships among the OTU's. The Phylogenetic system of *Cinnamomum* in Hubei Province is also discussed in the present paper, based on the chemical constituents and the relationship mentioned above.

Key words *Cinnamomum*; Numerical chemotaxonomy; Correlation among characters; Evolutionary relationship